

コカイン含有食品の分析

山盛 愛子*, 今村 和子*, 犬飼 佐枝子*, 野口 源司*, 湯浅 正人*, 松本 啓嗣**, 池原 裕可里**

Analysis of Cocaine-containing Food Products

Aiko YAMAMORI*, Kazuko IMAMURA*, Saeko INUKAI*, Genji NOGUCHI*, Masato YUASA*,
Yoshitsugu MATSUMOTO** and Yukari IKEHARA**

*Nagoya Customs Laboratory

2-3-12, Irifune, Minato-ku, Nagoya, Aichi 455-8535 Japan

**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

Cocaine-containing food products are hard to analyze by conventional methods and the analysis may be quite time-consuming due to the small cocaine content relative to the large amount of interfering substances contained. Therefore, the possibility of qualitative and quantitative analysis of cocaine in cocaine-containing food products pretreated by the solid-phase extraction method was examined. Qualitative analysis of the pretreated samples by GC/MS was possible. Samples which were not pretreated by the solid-phase extraction method could not be analyzed by HPLC on account of a large content of interfering substances but determination of cocaine in samples pretreated by the solid-phase extraction method was possible.

1. 緒 言

税関の分析部門において、コカインの分析は、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー質量分析法（以下、GC/MS と略記する。）、高速液体クロマトグラフィー（以下、HPLC と略記する。）、赤外分光法等により行っている。これらの分析法は、試料が原末である場合、あるいは不正薬物に含まれる賦形剤など一般的な不純物を含有するもので、かつコカイン以外に塩基性物質を含有しない場合はいずれも有用であるが、複雑な組成からなる混合物の場合、煩雑な前処理を必要とする上に、分析が困難であったり、カラムの劣化など装置に悪影響を与えることもある。

試料の前処理は、①妨害物質の除去、②目的物質の濃縮を主な目的として行うものであり、その中でも広く用いられているものに固相抽出法がある。これは、液体クロマトグラフィーの分離技術を基礎とした前処理技術で、選択性のある固定相を用い、複雑な組成をもつ試料中から目的成分のみを抽出する方法である。この方法は、従来からの液-液抽出に比較して、①回収率、再現性が良好、②迅速処理が可能、③エマルジョンの生成がない、④使用溶媒が少なくすむ、などの利点がある¹⁾。

近年、密輸入される不正薬物の中には、キャンディー、クッキー、蜂蜜、タフィー、チョコレート等食品にコカインを混入させ

たものや、コカの葉をティーバッグにしたコカ茶等が見られる。これらの分析においては、食品に含まれる多量の糖や水分などの影響により一般的な有機溶剤による抽出が困難であり、コカイン含有量が非常に少ないことから、液-液抽出法などの煩雑な前処理を必要とする。

そこで今回、コカインを含有したこれらの食品について、塩基性薬物の選択的抽出に有用な、逆相分配と陽イオン交換の作用を持ったポリマー充填剤を用いた固相抽出法によりコカインを選択的に抽出し、定性分析を行うことが可能であるかを検討した。また、量刑を決定する際の参考のため、コカインの含有量を測定する定量分析の可否について検討した。

2. 実 験

2. 1 試料及び試薬

2. 1. 1 試料

コカイン含有食品（キャンディー3 種、クッキー2 種、蜂蜜 1 種、タフィー2 種、チョコレート1 種、茶4 種）（いずれも厚生労働省より交付されたもの）

コカ葉1 種（厚生労働省より交付されたもの）

市販の食品類（キャンディー、クッキー、蜂蜜、タフィー、チョコレート及び緑茶）

* 名古屋税関業務部 〒455-8535 愛知県名古屋港区入船 2-3-12

** 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

2. 1. 2 試薬

コカイン塩酸塩（大日本製薬）
硫酸アトロピン（東京化成工業）
塩化鉄（Ⅲ）六水和物（関東化学）
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）（和光純薬工業）
りん酸（和光純薬工業）
りん酸二水素ナトリウム二水和物（片山化学）
りん酸水素二ナトリウム十二水和物（片山化学）
りん酸三ナトリウム十二水和物（関東化学）
りん酸二水素カリウム（関東化学）
りん酸水素二カリウム（関東化学）
28%アンモニア水（片山化学）
りん酸緩衝液（pH6.6）：15mM りん酸二水素カリウム+5mM りん酸水素二カリウム

2. 2 分析装置及び分析条件

2. 2. 1 固相抽出カートリッジ

カートリッジ：Oasis MCX 60 mg/3 cc 粒子径 30 μ m（日本ウォーターズ製）
コンディショニング（メタノール 3 ml）
↓
平衡化（水 3 ml）
↓
試料添加（10 ml or 5 ml）
↓
洗浄 1（2% ぎ酸 3 ml）
↓
洗浄 2（メタノール 3 ml）
↓
溶出（濃アンモニア水／メタノール（5 : 95）3 ml）

2. 2. 2 ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）

装置：6890N/5975B（Agilent 製）
カラム：UltraAlloy-5（30 m×0.25 mm、膜厚 0.25 μ m）
オープン温度：100℃（3 min）→（20℃/min）→350℃（8.5 min）
注入口温度：300℃
インターフェース温度：320℃
スプリット比：50 : 1
注入量：1 μ l

2. 2. 3 高速液体クロマトグラフ（HPLC）

装置：LC-10A（島津製作所製）
カラム：L-column ODS（4.6×250 mm、粒径 5 μ m）
移動相：20 mM りん酸：メタノール（35 : 65）
5 mM SDS
カラム温度：40℃
流速：0.8 ml/min
注入量：10 μ l
検出器：フォトダイオードアレイ検出器（230 nm）
内部標準物質：硫酸アトロピン

2. 3 実験方法

2. 3. 1 固相抽出カートリッジを用いた前処理

適量の試料をりん酸緩衝液で定容したものを試料溶液とし、0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過したものを、茶及びコカインに関しては 5 ml、それ以外のものは 10 ml を固相抽出カートリッジに添加し、2. 2. 1 の条件でコカインを抽出した。

2. 3. 2 GC/MS による定性分析

市販されている各食品に、コカイン塩酸塩を添加し、2. 3. 1 に従って前処理を行った後、溶出液を蒸発乾固し、残留物をメタノール 500 μ l に溶解し、次いでクロロホルム 500 μ l を加えて溶解したものを、GC/MS にて測定した。

2. 3. 3 HPLC による定量分析

2. 3. 3（1）移動相の検討

HPLC の移動相として、20 mM りん酸水溶液／メタノール系について、SDS 濃度とメタノールの混合割合を変化させ、コカインと内部標準物質であるアトロピンの保持時間を測定することにより、最適な組成について検討した。

2. 3. 3（2）安定性の確認

異なる pH 溶液中におけるコカインの安定性を調べるために、りん酸、りん酸二水素ナトリウム、りん酸水素二ナトリウム及びりん酸三ナトリウムの 50 mM 水溶液及び固相抽出における溶出液である、濃アンモニア水／メタノール（5 : 95）溶液にコカイン塩酸塩を溶解したものを試料溶液とし、蒸留水にコカイン塩酸塩を溶解したものを標準溶液として、HPLC にて測定した。定量は 1 点絶対検量線法により行い、10 日間の経時変化を確認した。

2. 3. 3（3）検量線の作成

25 ml のメスフラスコ 3 本に、それぞれコカイン塩酸塩を 5、10、20 mg 採取し、内部標準物質である硫酸アトロピンの 3% りん酸緩衝液溶液 3 ml を加え、りん酸緩衝液により定容する。この溶液を 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過したものを HPLC により測定し、コカインの濃度と得られたコカインとアトロピンのピーク面積比から、固相抽出法による前処理を行わない実験のための検量線を作成した。

また、100 ml のメスフラスコに、0.004%（低濃度用）又は 0.1%（高濃度用）のコカイン塩酸塩のりん酸緩衝液溶液をそれぞれ 1、5、10、15、20 ml 採取し、硫酸アトロピンの 0.07%（低濃度用）又は 2%（高濃度用）りん酸緩衝液溶液 5 ml を加え、りん酸緩衝液により定容する。この溶液を 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過したものを HPLC により測定し、コカインの濃度と得られたコカインとアトロピンのピーク面積比から、固相抽出法による前処理を行なった実験のための検量線を 2 種類作成した。

2. 3. 3（4）回収率の測定

食品がコカインの定量結果に与える影響を確認するために、市販されている各食品 0.5 g を 25 ml メスフラスコに採取し、コカイン塩酸塩 10 mg 及び内部標準物質として硫酸アトロピンの 3% りん酸緩衝液溶液 3 ml を添加し、りん酸緩衝液で定容した。この溶液を 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過したものを試料溶液として HPLC にて測定し、2. 3. 3. (3) で作成した検量線から、固相抽出法による前処理を行わなかった場合の回収率を求めた。

また、各食品 1 g を 100 ml メスフラスコに採取し、0.004% (低濃度用) 又は 0.1% (高濃度用) のコカイン塩酸塩のりん酸緩衝液溶液 10 ml 及びアトロピンの 0.07% (低濃度用) 又は 2% (高濃度用) りん酸緩衝液溶液 5 ml を添加し、りん酸緩衝液で定容した。この溶液を 2. 3. 1 に従って前処理を行い、固相抽出後の濃アンモニア水/メタノール溶液を、50℃、減圧下で蒸発乾固させた後、残留物を移動相 1 ml に溶解したものを測定試料として HPLC により測定し、2. 3. 3. (3) で作成した検量線から、固相抽出法による前処理を行った場合の回収率を求めた。

2. 3. 3 (5) 実試料の定量分析

実試料 (コカイン含有食品及びコカ葉) について、100ml メスフラスコに適量を採取し (クッキー、チョコレート及びコカ葉は細かく粉碎した後)、茶及びコカ葉以外は 0.07%、茶及びコカ葉については 2% の硫酸アトロピンのりん酸緩衝液溶液 5 ml を添加した後、30 分間超音波洗浄機で抽出する。これをりん酸緩衝液で定容し、2. 3. 3. (4) と同様に固相抽出カートリッジによる前処理を行った測定試料を作成して HPLC により測定し、2. 3. 3. (3) で作成した検量線からコカイン塩酸塩の含有量を求めた。

3. 結果及び考察

3. 1 GC/MS による定性分析

固相抽出による前処理後、GC/MS にて測定した結果の一例を Fig.1 に示す。これはキャンディーにコカインを添加して測定したものである。(a) はキャンディーに対しコカイン塩酸塩の含有率が 0.01% となるよう添加したもの、(b) は同じく 0.001% となるよう添加したものについての SCAN モードにおけるトータルイオンカレントクロマトグラムである。これは、それぞれ 1 ng、0.1 ng のコカイン塩酸塩を注入していることになる。(c) は、含有率 0.001% の試料についての、コカインの主要フラグメントイオンである 82、182、303 を確認イオンとした SIM モードにおけるマスクロマトグラムである。

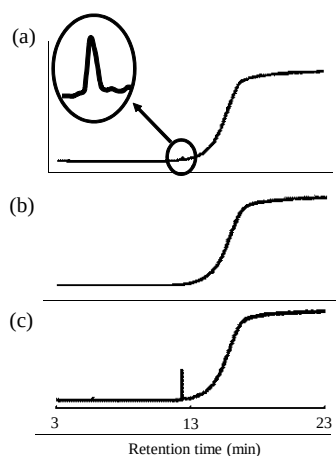


Fig.1 Chromatograms of mixtures of cocaine and candy after solid-phase extraction

- (a) : 0.01% (SCAN mode, TIC)
 (b) : 0.001% (SCAN mode, TIC)
 (c) : 0.001% (SIM mode, m/z82, 182and 303)

含有率 0.01% のものについては、SCAN モードにおいてピークを確認することができ定性可能である。また、コカインの他にピークは確認できず、キャンディーに由来する化合物を十分に除去できていると考えられる。一方、含有率 0.001% のものについては、SCAN モードにおいてはピークを確認することができなかったが、SIM モードにおいては、コカインと思われるシャープなピークを確認することができ、標準のコカインの保持時間と比較することにより定性分析が可能であると考えられる。

3. 2 HPLC による定量分析

3. 2. 1 移動相の検討

20 mM りん酸水溶液/メタノール系において、SDS 濃度及びメタノール混合割合を変化させたときの、コカイン及びアトロピンの保持時間を Fig.2 に示す。SDS 濃度 5%、りん酸水溶液/メタノール=35/65 の混合比が、分析時間及び分離から考えて適当である。

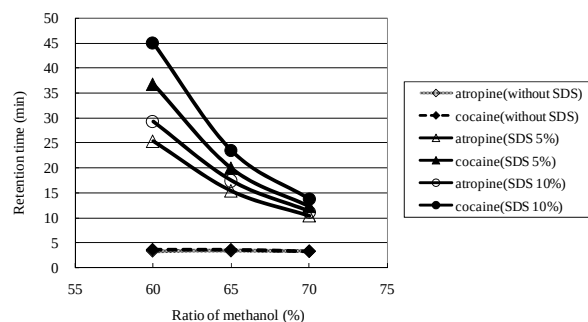


Fig.2 Retention times of cocaine and atropine

3. 2. 2 安定性の確認

異なる pH 溶液中におけるコカイン量の経日変化を Fig.3 に示す。酸性溶液中では分解しないが、アルカリ性溶液中では分解していることが分かる。また、りん酸三ナトリウム水溶液に溶解したものを GC/MS にて測定すると、メチルエクゴニンを検出した。以上のことから、コカインの分析の際には強アルカリ性を避け、長時間アルカリ溶液中に溶解している状態を避ける必要がある。

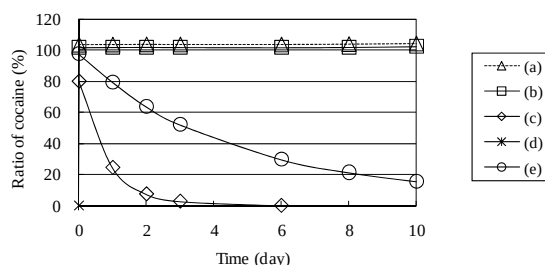


Fig.3 Stability of cocaine

- (a) : $\text{H}_3\text{PO}_4\text{aq}$ (pH2.6); (b): $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{aq}$ (pH4.7);
 (c) : $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{aq}$ (pH9.1); (d): $\text{Na}_3\text{PO}_4\text{aq}$ (pH11.3);
 (e) : Ammonia solution : Methanol = 5 : 95 (pH10.8)

3. 2. 3 検量線の作成

固相抽出法による前処理を行わなかった場合の検量線を Fig.4 に、固相抽出による前処理を行った場合の検量線を Fig.5 (低濃度) 及び Fig.6 (高濃度) に示す。いずれも良好な直線性を示した。

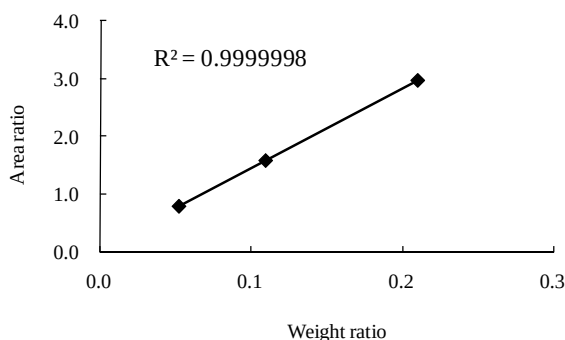


Fig.4 Calibration curve of cocaine without solid-phase extraction

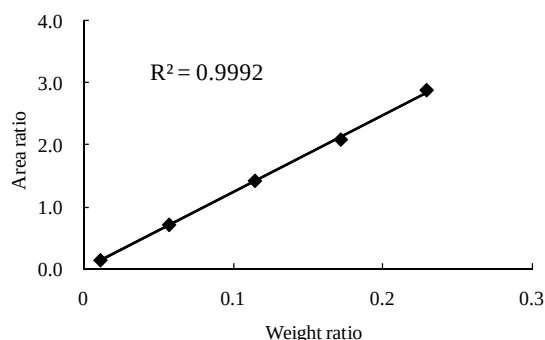


Fig.5 Calibration curve of cocaine with solid-phase extraction (low concentration)

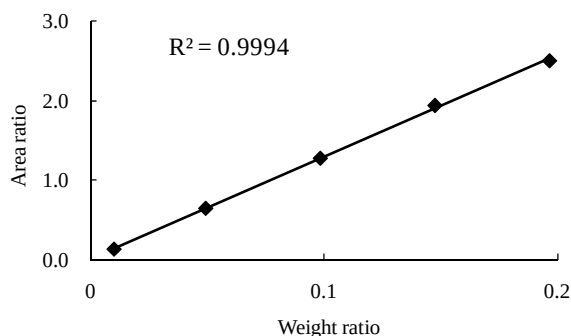


Fig.6 Calibration curve of cocaine with solid-phase extraction (high concentration)

3. 2. 4 回収率の測定

固相抽出法による前処理を行わなかった場合のコカインの回収率を Table 1 に示す。回収率は、茶以外は良好である。

Table1 Recovery of cocaine without solid-phase extraction

food	recovery ratio (%)
candy	101.8
cookie	99.0
toffee	99.3
honey	102.4
chocolate	97.2
tea	91.4
tea (add FeCl ₃)	103.2

茶に関して、タンニンの水溶液はアルカロイドと沈殿を生じることから²⁾、茶に含まれているタンニン酸が影響しているのではないかと考えた。そこで、試料中のタンニンを除去するために塩

化鉄(Ⅲ)を添加して測定を行ったところ、100%近い回収率を得ることができた。この実験では、市販されている緑茶を使用した³⁾、コカ茶及びコカ葉の分析においても、塩化鉄(Ⅲ)を添加する必要があると考える。

固相抽出法による前処理を行った場合のコカインの回収率を Table2 に示す。茶以外は低濃度の検量線を、茶は塩化鉄(Ⅲ)を添加し、高濃度の検量線を使用した。

Table2 Recovery of cocaine with solid-phase extraction

food	recovery ratio (%)
candy	102.7
cookie	103.2
toffee	104.2
honey	105.5
chocolate	73.5
tea (add FeCl ₃)	107.6

チョコレート以外は、ほぼ 100%の回収率を得た。チョコレートに関しては、含まれている多量の油脂等が影響してしまうためか、回収率は低く、更なる前処理条件の検討が必要である。

3. 2. 5 実試料の定量分析

実試料(コカイン含有食品及びコカ葉)のコカイン塩酸塩の含有率を Table3 に示す。茶及びコカ葉以外は低濃度の検量線を、茶及びコカ葉は塩化鉄(Ⅲ)を添加し、高濃度の検量線を使用した。

Table3 Percentages of cocaine content in samples

sample	content ratio (%)
candy 1	0.010
candy 2	0.016
candy 3	0.007
cookie 1	0.008
cookie 2	0.035
toffee 1	0.046
toffee 2	0.006
honey	0.001
chocolate	0.015
tea 1	0.903
tea 2	0.804
tea 3	0.933
tea 4	0.814
coca leaf	0.866

文献によると、コカノキの葉には約 1%程度のコカインが含有される⁴⁾とあり、精度よく抽出、定量分析を行うことができた⁵⁾と考える。試料によりコカイン含有率は大きく異なるため、定量分析を行う際には、試料採取量、内部標準物質を適切に選ぶ必要がある。

また、このようにコカイン含有量は非常に少なく、不純物が多いため、固相抽出法による前処理を行わずに分析しようとしたところ、ガードカラムが目詰まりしてしまい測定できなかった。固相抽出法による前処理を行うことにより、不純物を除去し、かつコカインを内部標準物質と共に濃縮することができるので、この固相抽出法による前処理は非常に有用であると考えられる。

4. 要 約

コカインを含有した食品について、市販されている固相抽出カートリッジを用いて前処理を行い、コカインを選択的に抽出し、定性分析を行うことが可能であるか検討した。また、定量分析の可否についても検討した。

固相抽出後、GC/MS による定性分析は可能であった。また、コ

カイン含有食品中のコカインの定量については、固相抽出を行わずに HPLC で定量する場合、コカインの含有量が少ないため、測定することができなかったが、固相抽出法による前処理を行うことにより、定量が可能であった。

固相抽出法による前処理は、不純物が多く、コカイン含有量が少ない場合において、非常に有用であり、分離条件や溶液の選択でコカインを定性的にも定量的にも分析できる条件を確立した。

文 献

- 1) (社)日本分析化学会液体クロマトグラフィー研究懇談会編集：“液クロ虎の巻”，p.136(2001)，(筑波出版会)
- 2) 化学大辞典編集委員会編集：“化学大辞典”，第 5 巻，p.763 (1997)，(共立出版)
- 3) 化学大辞典編集委員会編集：“化学大辞典”，第 3 巻，p.620 (1997)，(共立出版)
- 4) 厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課編集：“乱用薬物鑑定マニュアル” 第 3 版，p.288 (2003)